

葛根素对高脂血症大鼠血脂、血凝及血小板聚集的影响

邓祖跃, 朱社敏, 王丹, 康桦, 匡荣(浙江省食品药品检验所, 杭州 310004)

摘要: 目的 研究葛根素对高脂血症大鼠血脂、血凝及血小板聚集的影响。方法 建立大鼠的高脂血症模型, 同时连续腹腔注射给予葛根素($50 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)或空白溶媒($0.9\% \text{ NaCl}$)30 d, 测定大鼠血浆总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)、丙二醛(MDA)、超氧化物歧化酶(SOD)、凝血酶原时间(PT)、活化部分凝血活酶时间(APTT)、ADP 诱导的血小板 5 min 最大聚集率(MAR)。结果 与高脂饲料组比较, 饲高脂饲料大鼠在连续腹腔注射给予葛根素($50 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)30 d 后, 大鼠血浆 TG 含量平均下降 27%, TC 含量平均下降 21%, LDL-C 含量平均下降 39%, HDL-C 含量平均增加 24%; MDA 降低, SOD 升高, 血浆 PT、APTT 显著延长、MAR 降低($P<0.05$)。结论 葛根素不但能有效降低高脂血症大鼠血脂水平, 而且可能通过防止脂质过氧化而有效改善动物血凝系统。

关键词: 葛根素; 高脂血症; 血凝; 血小板聚集

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 1007-7693(2011)07-0611-04

Effects of Puerarin on Lipidemia, Blood Coagulation and Platelet Aggregation in Hyperlipidemia Rats

DENG Zuyue, ZHU Sheming, WANG Dan, KANG Hua, KUANG Rong(Zhejiang Institute for Food and Drug Control, Hangzhou 310004, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To explore effects of puerarin on lipidemia, blood coagulation and platelet aggregation in experimental hyperlipidemia rats. **METHODS** Experimental hyperlipidemia rats were ip administration of puerarin ($50 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$) or vehicle ($0.9\% \text{ NaCl}$) in 30 d. The levels of plasma triacylglyceride (TG), total cholesterol (TC), high density lipoprotein cholesterol (HDL-C), low density lipoprotein cholesterol (LDL-C), malondialdehyde (MDA), superoxide dismutase (SOD), prothrombin time (PT), activated partial thromboplastin time (APTT), and platelet maximal aggregation rate(MAR) which was induced by ADP in 5 min were measured. **RESULTS** Plasma TG, TC, LDL-C and HDL-C of the rats fed high fat diet (HFD) and ip puerarin ($50 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$) were 27%, 21%, 39% lower and 24% higher than that of HFD group rats. The PT and APTT of puerarin and HFD group rats were significantly longer than that of the HFD group ($P<0.05$). The SOD in puerarin and HFD group was higher ($P<0.05$) and the MDA and MAR in puerarin and HFD group was lower than that of HFD group ($P<0.01$). **CONCLUSION** Puerarin can reduce the serum lipid level of the hyperlipidemia rats effectively and prevent the lipid peroxidation, moreover blood clotting system in hyperlipidemia rats is improved effectively.

KEY WORDS: puerarin; hyperlipidemia; blood coagulation; platelet maximal aggregation rate

葛根素(puerarin)是葛根中异黄酮的主要有效成分之一, 其化学名为4, 7-羟基-8- β -D-葡萄糖异黄酮。纵观近年来对葛根素在心血管系统药理作用及机制研究方面的进展发现, 葛根素对心血管系统具有抗心律失常、降血压、扩张冠状动脉、抗心肌缺血、抗过氧化、抗缺血再灌注损伤, 影响血液动力学, 并且有抗血小板活性, 改善纤溶

活性及减轻炎症反应的作用^[1-4]。已有研究^[5-8]表明葛根素能降低高脂血症动物的血脂水平。但是, 关于葛根素对高脂血症动物的凝血系统中凝血因子活性的影响, 国内外相关研究报道较少。

1 材料和方法

1.1 仪器与试剂

注射用葛根素(每瓶含葛根素0.2 g, 浙江震元

作者简介: 邓祖跃, 男, 硕士, 副主任药师

Tel: (0571)86467104

E-mail: dzy7317@sina.com

制药有限公司,批号:090703),使用时取0.9%氯化钠注射液稀释至所需浓度;总胆固醇(total cholesterol, TC)、甘油三酯(triplyceride, TG)、高密度脂蛋白胆固醇(high density lipoprotein cholesterol, HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇(low density lipoprotein cholesterol, LDL-C)[购自德赛诊断系统(上海)有限公司]采用日立7020全自动生化分析仪测定(Japan)。凝血酶原时间(prothrombin time, PT)、活化部分凝血活酶时间(activated partial thromboplastin time, APTT)、ADP诱导的血小板5分钟最大聚集率(platelet maximal aggregation rate, MAR)(北京世帝科学仪器公司)采用LG-PABER-1血小板聚集凝血因子分析仪测定。丙二醛(malondialdehyde, MDA),超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)测定试剂盒(南京建成生物工程研究所)。

1.2 实验动物及分组

健康Wistar大鼠40只,♂,平均体重250~300 g,合格证号:0013242,由中科院上海实验动物中心提供。平衡饮食1周后随机分组,①正常对照组:饲正常饲料(糖、蛋白质及脂肪各占总热量的62%、17%及21%),并腹腔注射给予0.9%氯化钠注射液($4\text{ mL}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$)。②葛根素组:饲正常饲料,并腹腔注射给予葛根素稀释液(葛根素 $50\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$)。③高脂饲料组:饲高脂饲料(由普通基础饲料配制而成,含10%猪油,2%胆固醇,0.2%胆盐),并腹腔注射给予0.9%氯化钠注射液($4\text{ mL}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$)。④高脂饲料葛根素组:饲高脂饲料,并腹腔注射给予葛根素稀释液(葛根素 $50\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$)。常规饮水,连续给药30 d。

1.3 样本采集

实验前晚禁食不禁水。大鼠乙醚麻醉后,心脏取血,分3份标本,1份标本置于EDTA- K_2 抗凝管中, $2\,500\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$,离心10 min,制备血清,用于生化指标测定, $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存备用;1份标本用109

$\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 枸橼酸钠溶液按1:9的比例抗凝, $700\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$,离心15 min,分离富血小板血浆,剩余标本, $2\,500\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$,离心15 min,分离乏血小板血浆,用于血小板聚集测定;另1份标本用109 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 枸橼酸钠溶液按1:9的比例抗凝, $2\,500\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$,离心15 min,制备血浆用于PT及APTT测定。所有指标测定均于标本制备当日完成。

1.4 血脂测定

全自动生化分析仪测定血浆TG, TC, LDL-C及HDL-C。

1.5 氧化及抗氧化指标测定

MDA含量及SOD活力按试剂盒说明测定。MDA及SOD测定批内变异系数($n=5$)分别为2.2%及2.5%,批间变异系数($n=3$)分别为2.8%及3.7%。

1.6 PT、APTT和MAR测定

PT、APTT和MAR用LG-PABER-1血小板聚集凝血因子分析仪测定。PT、APTT及MAR测定批内变异系数($n=5$)分别为1.5%、1.4%及2.1%,批间变异系数($n=5$)分别为2.5%、2.3%及3.1%。

1.7 统计学处理

实验数据均以 $\bar{x}\pm s$ 表示。双侧 t 检验进行组间显著性分析, $P<0.05$ 认为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 葛根素对高脂血症大鼠血浆TC, TG, HDL-C及LDL-C含量的影响

与正常对照组相比,在连续饲高脂饲料30 d后,大鼠血浆TG, TC及LDL-C含量均升高(TG: 1.38倍; TC: 1.74倍; LDL-C: 2.36倍),而HDL-C含量下降(下降18%),这表明本实验中高脂血症大鼠模型建立成功。大鼠在连续腹腔注射给予葛根素($50\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)30 d后,血浆的TG, TC, HDL-C及LDL-C无明显变化(与正常对照组大鼠相比, $P>0.05$);同时与高脂饲料组大鼠相比,高脂饲料葛根素组大鼠血浆TC含量显著下降,而HDL-C显著升高,并达正常水平($P<0.01$)。结果见表1。

表1 葛根素对高脂血症大鼠血浆TC, TG, HDL-C及LDL-C含量的影响($n=10$, $\bar{x}\pm s$)

Tab 1 Effects of puerarin on TG, TC, HDL-C and LDL-C in rats fed high fat diet or normal diet ($n=10$, $\bar{x}\pm s$)

组别	TG/ $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$	TC/ $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$	HDL-C/ $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$	LDL-C/ $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$
正常对照组	0.53 ± 0.14	1.55 ± 0.20	3.28 ± 0.26	2.64 ± 0.29
葛根素组	0.46 ± 0.14	1.57 ± 0.22	3.19 ± 0.25	2.54 ± 0.32
高脂饲料组	$0.73\pm 0.24^{1)}$	$2.69\pm 0.21^{1)}$	$2.68\pm 0.28^{1)}$	$6.24\pm 0.48^{1)}$
高脂饲料葛根素组	$0.61\pm 0.18^{2)}$	$1.93\pm 0.34^{2)}$	$3.49\pm 0.33^{2)}$	$2.67\pm 0.23^{2)}$

注:与正常对照组比较, $^{1)}P<0.01$;与高脂饲料组比较, $^{2)}P<0.01$

Note: Compared with normal control group, $^{1)}P<0.01$; compared with high fat diet group, $^{2)}P<0.01$

2.2 葛根素对高脂血症大鼠血浆SOD活力及MDA含量的影响

与正常对照组相比, 高脂饲料组大鼠血浆SOD活力显著降低($P<0.01$), MDA含量显著增加($P<0.01$)。腹腔注射葛根素后, 大鼠血浆SOD活力及MDA含量与正常对照组相比则无显著性差异。饲高脂饲料大鼠在连续腹腔注射给予葛根素30 d后, 大鼠血浆SOD活力较高脂饲料组显著升高($P<0.01$), MDA含量降低($P<0.05$), 结果见表2。

表2 葛根素对高脂血症大鼠血浆 SOD 及 MDA 含量的影响($n=10$, $\bar{x} \pm s$)

Tab 2 Effects of puerarin on SOD and MDA in rats fed high fat diet or normal diet ($n=10$, $\bar{x} \pm s$)

组别	SOD/U·mL ⁻¹	MDA/U·mL ⁻¹
正常对照组	155.72±2.67	4.18±1.51
葛根素组	156.33±6.71	4.18±1.51
高脂饲料组	148.18±2.72 ¹⁾	5.43±1.49 ¹⁾
高脂饲料葛根素组	155.09±2.59 ³⁾	4.67±1.04 ²⁾

注: 与正常对照组比较, ¹⁾ $P<0.01$; 与高脂饲料组比较, ²⁾ $P<0.05$, ³⁾ $P<0.01$
Note: Compared with normal control group, ¹⁾ $P<0.01$; compared with high fat diet group, ²⁾ $P<0.05$, ³⁾ $P<0.01$

2.3 葛根素对高脂血症大鼠PT及APTT的影响

与正常对照组相比, 高脂饲料组大鼠血浆PT及APTT均显著缩短($P<0.01$), MAR显著增加($P<0.01$)。腹腔注射葛根素后, 大鼠血浆 PT、APTT及MAR与正常对照组相比则无显著性差异。饲高脂饲料大鼠在连续腹腔注射给予葛根素30 d后, 大鼠血浆PT及APTT均较高脂饲料组延长($P<0.01$), MAR降低($P<0.01$)。结果见表3。

表3 葛根素对高脂血症大鼠血凝及血小板聚集的影响($n=10$, $\bar{x} \pm s$)

Tab 3 Effects of puerarin on PT, APTT, and MAR in rats fed high fat diet or normal diet($n=10$, $\bar{x} \pm s$)

组别	PT/s	APTT/s	MAR/%
正常对照组	28.78±1.49	63.54±9.61	0.21±0.08
葛根素组	27.58±2.13	63.12±8.59	0.22±0.11
高脂饲料组	14.87±0.91 ¹⁾	18.34±2.39 ¹⁾	0.52±0.11 ¹⁾
高脂饲料葛根素组	16.67±0.54 ²⁾	25.28±2.53 ²⁾	0.35±0.11 ²⁾

注: 与正常对照组比较, ¹⁾ $P<0.01$; 与高脂饲料组比较, ²⁾ $P<0.01$
Note: Compared with normal control group, ¹⁾ $P<0.01$; compared with high fat diet group, ²⁾ $P<0.01$

3 讨论

本实验中高脂血症大鼠饲葛根素后, 大鼠血浆TC及LDL-C含量均下降, 而HDL-C含量却增加, 这与已有的研究结果基本一致, 而葛根素影响血脂代谢的主要途径可能主要通过促进胆固醇转化

为胆酸来实现的^[9]。

高脂状态下, 自由基生成增加, 自由基作为体内的主要氧化因子, 能引起机体发生多种组织器官损伤, 如动脉粥样硬化。前期实验发现高脂血症大鼠血浆中脂蛋白均发生了氧化修饰。本次实验中, 高脂模型组的抗氧化指标SOD活力明显下降, 而脂质氧化产物MDA含量显著增加, 也证明了脂质发生了氧化。而葛根素组能增加SOD活力, 降低MDA含量, 使其基本达到正常对照组水平。也有研究表明葛根素能降低Ox-LDL水平^[10], 说明葛根素具有抗氧化能力。葛根素有清除自由基的作用^[11-12], 笔者推测可能原因是葛根素含有丰富的酚羟基, 能结合自由基离子, 从而消除了自由基, 达到抗氧化目的。

由于高脂状态下常伴有高凝状态, 葛根素对血小板聚集的作用已经在其他状态下有一定的研究^[4], 但对凝血系统中凝血因子的影响较少研究, 本次实验对代表外源性凝血途径活化程度的PT和内源性凝血途径活化程度的 APTT 进行了研究。笔者发现高脂血症的PT及APTT明显缩短, 血小板聚集增加。前期研究^[13]发现, 高脂血症患者血浆自由基生成显著增加, 脂蛋白均发生了氧化修饰, 而且正常人血浆脂蛋白氧化修饰后, 均可促进血凝及增加血小板聚集。因此推测本次实验中高脂血症大鼠的血凝及血小板功能的影响可能是由氧化修饰脂蛋白引起。本次实验中高脂血症大鼠饲葛根素后, PT 及 APTT 明显延长($P<0.01$), 血小板聚集显著降低($P<0.01$), 降低血凝。这可能是由于葛根素能降低血脂水平, 同时葛根素作为强大的氧自由基捕获剂, 能抑制自由基的产生并加快其清除, 降低了血浆中引起脂质氧化和载脂蛋白改变的因素; 而且葛根素能提高机体抗氧化酶活力^[11], 从而降低了血脂对凝血系统的影响。综上所述, 本研究证实葛根素可明显降低高脂血症大鼠血脂水平, 改善高脂血症大鼠的凝血系统及血小板聚集功能, 缓解高脂血症引起的高凝状态, 从而起到保护心血管系统的作用。

REFERENCES

[1] ZHENG H. Advances of research and development of pueraria radices [J]. Amino Acids Biotic Resour(氨基酸和生物资源), 2006, 28(2): 24-26.
[2] SHAO X R, ZOUS H, ZHOU Y, et al. Study on the pueraria treated hyperviscosemia syndrome-the pueraria's application in the phase III of clinical experiment [J]. Aerosp Med(航空

- 航天医药), 1997, 8(2): 1-4.
- [3] SHI W G, WANG J W, BI J T. Effects of puerarin on the insulin resistance and fib rinolytic activity in patients with acute coronary syndrome [J]. Chin J Integr Tradit West Med Intensive Crit Care(中国中西医结合急救杂志), 2004, 11(5): 307-310.
- [4] LI Y H, LI Z Q, LI Z H, et al. Effects of puerarin on platelet activation and intimal thickening after vascular balloon injury in rats [J]. Chin J Integr Tradit West Med Intensive Crit Care(中国中西医结合急救杂志), 2003, 10(2): 87-89.
- [5] ZHOU J F, WANG G L, LIU C Q, et al. Effect of puerarin on blood lipid [J]. J Gannan Med Univ(赣南医学院学报), 2008, 28(4): 499-500.
- [6] LIU Y M, NIU X, LIU G Z, et al. Research on effects of compound Gegeng capsule on blood sugar and blood-fat of experimental model of diabetes mellitus and hyperlipemia [J]. China J Tradit Chin Med Pharm(中国医药学报), 2003, 18(6): 344-346.
- [7] YANG R Z, ZENG J, LIU C Q, et al. Effect of puerarin on blood lipid of rats [J]. Lishizhen Med Mater Med Res(时珍国医国药), 2007, 18(10): 2496.
- [8] LI J, LIU Y M. The effect of the compound of puerarin capsule on the weights, lipid, insulin and leptin in obese rats [J]. Shanxi Med J(山西医药杂志), 2009, 38(4): 291-293.
- [9] YAN L P, CHEN S H, CHEN W M, et al. Regulatory effect of puerarin on lipid profile in hypercholesterolemic rats [J]. Chin J Clin Pharm Ther(中国临床药理学与治疗学), 2006, 11(5): 574-577.
- [10] DUAN S, LI Y F, LUO X L, et al. Effect of puerarin on heart function and serum oxidized-LDL in the patients with chronic cardiac failure [J]. Bull Hunan Med Univ(湖南医科大学学报), 2000, 25(2): 176-178.
- [11] ZHANG G C, FANG S M. Antioxidation of pueraria lobata isoflavones [J]. Acta Univ Med Tongji(同济医科大学学报), 1997, 26(5): 340-343.
- [12] XU X H. Effects of puerarin on fatty superoxide in aged mice induced by *D*-galactose [J]. China J Chin Mater Med(中国中药杂志), 2003, 28(1): 66-69.
- [13] HUAI B, LIU B W, DENG Z Y, et al. Plasma very-low-density lipoprotein, low-density lipoprotein, and high-density lipoprotein oxidative modification induces procoagulant profiles in endogenous hypertriglyceridemia [J]. Free Radic Biol Med, 2006, 40(10): 1796-1803.

收稿日期: 2010-11-10